

PCT

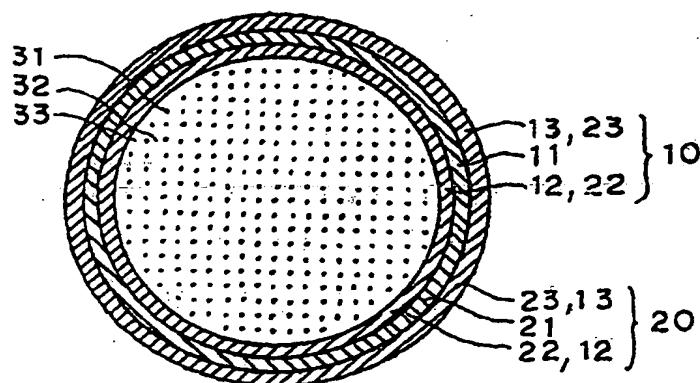
世界知的所有権機関  
国際事務局  
特許協力条約に基づいて公開された国際出願



|  |    |   |
|--|----|---|
| (51) 国際特許分類6<br>A61F 2/04, A61L 27/00  | A1 | (11) 国際公開番号<br>WO99/63908   |
|  |    | (43) 国際公開日<br>1999年12月16日(16.12.99)   |
| (21) 国際出願番号<br>PCT/JP99/03018  |    |   |
| (22) 国際出願日<br>1999年6月7日(07.06.99)  |    |   |
| (30) 優先権データ<br>特願平10/162397<br>1998年6月10日(10.06.98)  | JP | (81) 指定国 CA, CN, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)<br>添付公開書類<br>国際調査報告書 |
| (71) 出願人 ; および<br>清水慶彦(SHIMIZU, Yasuhiko)[JP/JP]<br>〒611-0002 京都府宇治市木幡御蔵山39-676 Kyoto, (JP)                |    |   |
| (72) 発明者<br>株式会社 タピック<br>(TAPIC INTERNATIONAL CO., LTD.)[JP/JP]<br>〒105-0001 東京都港区虎ノ門1丁目22番12号 Tokyo, (JP) |    |   |
| (74) 代理人<br>弁理士 津園 健(TSUKUNI, Hajime)<br>〒105-0001 東京都港区虎ノ門1丁目22番12号<br>SVAX TSビル Tokyo, (JP)              |    |   |

(54) Title: ARTIFICIAL NEURAL TUBE

(54) 発明の名称 人工神経管



(57) Abstract

An artificial neural tube the degradation rate of which *in vivo* can be controlled so that it can remain *in vivo* until the completion of the nerve regeneration and, after the nerve regeneration, which can induce the elongation along the proper direction of an axon regenerating from the end of the broken nerve without pressurizing the regenerating nerve and promotes the invasion of capillary blood cells so as to contribute to the early restoration of the blood flow, thereby promoting the regeneration of the nerve tissue, characterized by consisting of tubes (10, 20) having tubes (11, 21) made of a biodegradable/absorbable material and provided with coating layers (13, 23) on the external face thereof and collagen bundles [i.e., bundles of fibers (31) made of collagen], which have been dehydrated and cross-linked by heating, inserted into the tubes along the longitudinal axis and the collagen fibers being coated with laminin.

神経が再生するまで生体内で残存させることができるよう生体内分解速度をコントロールでき、神経の再生後、再生した神経を圧迫する事なく、切断された神経断端から再生してくる軸索が正しい方向に伸びるように誘導し、生体からの毛細血管の侵入を促すことによって早期の血流回復をもたらし、神経組織の再生を促すような人工神経管であって、生体内分解吸収性材料からなるチューブ 11、21 の少なくとも外面にゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層 13、23 を有するチューブ 10、20 と、その内腔に、該チューブの軸線に挿入された予め熱脱水架橋処理を施されたコラーゲンの纖維束（コラーゲンからなる線維 31 の束の意味である）とからなり、該コラーゲンからなる線維がラミニンにて被覆されたものであることを特徴とする。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

|                 |            |                   |               |
|-----------------|------------|-------------------|---------------|
| AE アラブ首長国連邦     | DM ドミニカ    | KZ カザフスタン         | RU ロシア        |
| AL アルベニア        | EE エストニア   | LC セントルシア         | SD スーダン       |
| AM アルメニア        | ES スペイン    | LI リヒテンシュタイン      | SE スウェーデン     |
| AT オーストリア       | FI フィンランド  | LK スリランカ          | SG シンガポール     |
| AU オーストラリア      | FR フランス    | LR リベリア           | SI スロヴェニア     |
| AZ アゼルバイジャン     | GA ガボン     | LS レント            | SK スロヴァキア     |
| BA ボスニア・ヘルツェゴビナ | GB 英国      | LT リトアニア          | SL シエラ・レオネ    |
| BB バルバドス        | GD グレナダ    | LU ルクセンブルグ        | SN セネガル       |
| BE ベルギー         | GE グルジア    | LV ラトヴィア          | SZ スウェーデン     |
| BF ブルガリア・ファン    | GH ガーナ     | MA モロッコ           | TD チャード       |
| BG ブルガリア        | GM ガンビア    | MC モナコ            | TG トーゴー       |
| BJ ベナン          | GN ギニア     | MD モルドバ           | TJ タジキスタン     |
| BR ブラジル         | GW ギニア・ビサオ | MG マダガスカル         | TZ タンザニア      |
| BY ベラルーシ        | GR ギリシャ    | MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア | TM トルクメニスタン   |
| CA カナダ          | HR クロアチア   | 共和国               | TR トルコ        |
| CF 中央アフリカ       | HU ハンガリー   | ML マリ             | TT トリニダッド・トバゴ |
| CG コンゴ          | ID インドネシア  | MN モンゴル           | UA ウクライナ      |
| CH スイス          | IE アイルランド  | MR モーリタニア         | UG ウガンダ       |
| CI ニートジボアール     | IL イスラエル   | MW マラウイ           | US 米国         |
| CM カメルーン        | IN インド     | MX メキシコ           | UZ ウズベキスタン    |
| CN 中国           | IS アイスランド  | NE ニジエール          | VN ヴィエトナム     |
| CR コスタ・リカ       | IT イタリア    | NL オランダ           | YL ユーヨースラビア   |
| CU キューバ         | JP 日本      | NO ノルウェー          | ZA 南アフリカ共和国   |
| CY キプロス         | KE ケニア     | NZ ニュージーランド       | ZW ジンバブエ      |
| DE チェコ          | KG キルギスタン  | PL ポーランド          |               |
| DK ドイツ          | KP 北朝鮮     | PT ポルトガル          |               |
| DK デンマーク        | KR 国       | RO ルーマニア          |               |

## 明細書

## 人工神経管

## 技術分野

5 本発明は、人工神経管に関する。

## 背景技術

10 末梢神経が、手術で切断されたり、あるいは外傷により切断された場合、切断された末梢神経の断端の相互を直接吻合する方法がまず試みられる。しかし、多くの場合、切断された神経を正確に直接吻合することは不可能であり、切断されたまま放置されることがある。このため、末梢側に向かって再生しようとする神経が、結合組織などに阻まれ、末梢側神経断端に到達できずに、切断端神経腫となって再生が停止し、その結果、術創や創傷の治癒後、切断された神経の機能が回復せず、後遺症が残ることが多い。直接吻合が不可能である場合、同じ患者から、その機能のあまり重要でない末梢神経を部分的に切除し、これを用いて神経の切断箇所に自家移植を行うこともある。しかし、この方法でも、神経機能が十分に回復されないことが多いばかりでなく、移植神経を採取した部分においても機能の低下が見られることが多い。

20 そこで、切断された末梢神経の断端の相互を、チューブ状の医用材料、つまり人工神経管で接続し、神経幹の中枢側断端から末梢側断端に向かって軸索が再生し、正しい方向に伸びるのを誘導して、末梢神経幹から神経筋接合部又は末梢感覚受容器まで到達させ、これにより、機能を回復させようとする試みが多数行われてきた。人工神経管としては、従来、シリコーン、ポリエチレン、ポリ塩化ビニルなどからなる非多孔性チューブ、延伸ポリテトラフルオロエチレン、セルロースなどからなる多孔性チューブ、ポリアクリロニトリルやポリスルホンなどからなる半透膜チューブ、生体内分解性材料であるポリグリコール酸、ポリ乳酸もしくはこれらの共重合体などからなるチューブ、あるいはゼラチンチューブ、あるいは動脈もしくは静脈などの同種由来の生体組織チューブが試みられてきた。しかし、これらの材料による末梢神経の再生実験では、材料により生体の修復が妨

げられるため、これまで再生することのできた神経の長さは、長くとも 15 mm 程度のものである。また、再生する神経が細く、神経の形態が正常に回復しないばかりか、再生した神経の機能も回復しないことが多い。また、神経成長因子である NGF をチューブに充填した例も報告されているが、NGF が早期に流出、拡散してしまうため、優れた効果は得られていない。

最近では、コラーゲンチューブに、ラミニン及びフィブロネクチンを被覆したコラーゲン線維を充填した人工神経管 (Tong, X., et al. Brain Research 663: 155-162 (1994)) が試みられているが、神経がより長く再生するまでの間、コラーゲンチューブが分解されずに残存することができず、良好な結果は得られていない。

一方、脊髄は、一度損傷を受けると再生しないと考えられてきた。外傷、腫瘍などにより脊髄が損傷を受けた場合、損傷を受けた脊髄は再生することなく、損傷部以下の機能は失われたままであり、対麻痺が後遺症として残ることになる。しかし、最近は、脊髄も再生しうることを証明する動物実験が行われ始め、脊髄を鋭利に切断し、正確に再縫合した場合は、機能が回復し、脊髄損傷部もかなり修復されること、脊髄の一部を管状に切除し、この箇所に肋間神経束を埋植すると、脊髄の一部が再生し、機能も部分的ではあるが回復すること、そして脊髄の一部を管状に切除し、この箇所に胎児の脊髄を移植すると、脊髄の機能も形態も回復することなどが、ラットの実験で観察されている。この場合でも、移植する胎児の脊髄片を、それぞれの神経突起を正しく対応させて移植した場合にのみ再生が起きることが認められている。以上の知見より、脊髄においても、正確に再生組織のコンパートメントを一致させる様に誘導することによって、脊髄の再生が起こり得ることが判明したが、実際に脊髄の再生を可能とする人工脊髄管は全く開発されていない。

そこで、神経が再生するまで生体内で残存させることができるように、生体内分解速度をコントロールでき、神経の再生と共に生体内で分解吸収されるため、神経の再生後、再生した神経を圧迫する事なく、切断された神経断端から再生してくる軸索が正しい方向に伸びるように誘導し、生体からの毛細血管の侵入を促すことによって早期の血流回復をもたらし、神経組織の再生を促すような人工

神経管の開発が望まれてきた。また末梢神経ばかりでなく、脊髄の欠損部分を接続し、脊髄組織を正しく再生し、機能回復を促す人工脊髄管の開発も熱望されている。

5

### 発明の開示

本発明は、人工神経管であって、生体内分解吸収性材料からなるチューブ 11、21 の少なくとも外面にゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層 13、23 を有するチューブ 10、20 と、その内腔に、該チューブの軸線に挿入された予め熱脱水架橋処理を施されたコラーゲンの纖維束（コラーゲンからなる線維 31 の束の意味である）とからなり、該コラーゲンからなる線維がラミニンにて被覆されたものであることを特徴とする。本発明はまた、上記人工神経管を製造する方法であって、予め熱脱水架橋を施したコラーゲンの線維 31 の束を準備し；該コラーゲンの線維束を構成する各線維 31 の表面をラミニンにて被覆し；生体内分解吸収性材料からなるチューブ 11、21 の少なくとも外面にゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層 13、23 を有するチューブ 10、20 を作成し；該チューブの軸線にほぼ平行に該ラミニン被覆コラーゲンからなるコラーゲン線維束を挿入し；そして熱脱水架橋処理に付す；ことを特徴とする。

15

### 図面の簡単な説明

20 図 1 は、この発明に係る人工神経管の 1 実施態様の断面を示す図である（構成を模式的に示したものであり、寸法は実寸ではない）。

25

各符号は、  
11、21：（生体内分解吸収性の）チューブ

12、13：（ゼラチン）被覆層

22、23：（コラーゲン）被覆層

31：コラーゲン線維

を表す。

### 発明を実施するための最良の形態

本発明の人工神経管を構成するチューブの長さ及び内径は、神経の切断部分の長さ及び神経の太さに応じて異なるが、例えば、ネコを用いて、その座骨神経の約25mm程度の欠損部をカバーするには、長さは、約28～35mm、好ましくは約30mm、内径は、約1～8mm、好ましくは約4mmである。また、本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合も、チューブの長さは、切断部分の長さに応じて決定され、その内径は、好ましくは約2～12mm、特に約10mmである。

本発明の人工神経管を構成する生体内分解吸収性材料からなるチューブは、切断された神経が再生して、切断された箇所が再結合するまでの間（約1～3か月間）、チューブ外からの生体細胞の侵入を防ぐためにチューブの形状を保持する必要があり、そのために、生体内分解吸収性でありながらも、ある程度の期間、生体内でその形状を維持することのできるポリグリコール酸、ポリ乳酸（L、D L）、グリコール酸と乳酸との共重合体、乳酸とε-カプロラクトンとの共重合体、ポリジオキサン、及びグリコール酸とトリメチレンカーボネートとの共重合体から選択される材料からなるメッシュ状材料、なかでもポリグリコール酸からなるメッシュ状材料のチューブが好ましい。また、ポリグリコール酸などの生体内分解吸収性材料からなるメッシュ状材料のチューブのほか、微細線維化コラーゲンからなる材料のチューブも好適に用いることができる。

まず、生体内分解吸収性材料が、ポリグリコール酸などの材料からなるメッシュ状材料であるチューブ11の少なくとも外面に、ゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層13、23を有する、本発明の人工神経管について記載する。ポリグリコール酸からなるメッシュ状材料からなるチューブ11は、上記したような内径及び長さを有するが、約1～3か月間、人工神経管のチューブ状の形状を保持させるため、該チューブの厚さ（筒体としてのチューブの壁の厚さ。以下、同様）は、好ましくは約0.1～3mm、特に約0.5～2mmである。厚さが約3mmを超えると、生体組織の再生の障害となり、厚さが約0.1mm未満であると、チューブの分解吸収が早過ぎて、神経が再生し終わるまでその形状が維持されない。また本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合、その厚さは、好ましくは約0.2～5mm、特に、約0.5～3mmである。

生体内分解吸収性材料がポリグリコール酸などの材料である場合、疎水性であるチューブ11に水透過性を確保するため、チューブ11はメッシュ状である。このメッシュ状チューブ11のメッシュ孔径は、好ましくは約5～30μm、特に10～20μmである。メッシュ孔径が、約5μm未満であると細胞や組織が増殖できず、約30μmを越えると組織の進入が過剰となる。

ポリグリコール酸などの材料からなるメッシュ状材料からなるチューブ11の場合、該材料自体には組織の再生を促進させる作用はないので、チューブ11の少なくとも外面に、組織再生促進作用を有する材料であるゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層13、23を有するが、特にチューブ11の外面に加えて、該チューブの内面及びメッシュ孔内部表面も被覆されているのが好ましい。被覆層13、23（内面にもある場合には、12、22）の厚さは、コラーゲン被覆層の場合、好ましくは約0.2～5mm、特に約0.5～3mmであり、ゼラチン被覆層の場合、好ましくは約0.2～5mm、特に約0.5～3mmである。このような組織再生促進作用を有する材料としては、水透過性を有し、生体に適用しても異物反応を起こさず、生体親和性及び組織適合性に優れ、組織の再生を促進させる作用を有するコラーゲン又はゼラチンが挙げられる。コラーゲンの原料としては、従来から用いられている各種動物由来のコラーゲンを使用することができ、例えばウシ、ブタ、ウサギ、ヒツジ、カンガルー、鳥などの動物の皮膚、骨、軟骨、腱、臓器などに由来する、酸、アルカリ、酵素などによって可溶化されたI型コラーゲン、又はI型及びIII型の混合コラーゲンが好ましい。コラーゲンからなる被覆層は、コラーゲン分子が分散しているアモルファス構造の層である。ゼラチンからなる被覆層は、日局精製ゼラチンを原料とすることができます。

本発明の人工神経管においては、生体内分解吸収性材料からなるチューブ11、21は、上記のポリグリコール酸などの材料からなるメッシュ状材料からなるチューブ11のほか、組織再生促進作用のあるコラーゲンを原料とした、微細線維化コラーゲンからなる材料からなるチューブ21であることもできる。以下に、生体内分解吸収性材料が、微細線維化コラーゲンからなる材料であり、そしてチューブ21の被覆層23（場合によっては22も）がコラーゲンからなるものである、本発明の人工神経管について記載する。

生体内分解吸収性材料の原料として用いるコラーゲンとしては、上記したような、従来から用いられている各種動物由来の、酸、アルカリ、酵素などによって可溶化された I 型コラーゲン、又は I 型及び III 型の混合コラーゲンが好適である。この微細線維化コラーゲンからなる材料は、コラーゲン分子からなる微細線維が多重に折り重なった不織布状多元構造体のマトリックス又は糸状物を織ったものもしくは編んだものであり、これを材料とするチューブ 21 は、上記したような内径及び長さを有する。その厚さは、好ましくは約 0.5 ~ 5mm、特に約 1 ~ 2mm であり、また本発明の人工神経管を人工脊髄管として用いる場合は、その厚さは、好ましくは約 0.5 ~ 5mm、特に約 1 ~ 3mm である。また、このチューブ 21 の少なくとも外面に形成されるコラーゲンからなる被覆層 23 (場合によっては 22 も) は、上記したような従来から用いられている各種動物由来の可溶化された I 型コラーゲン又は I 型及び III 型の混合コラーゲンを原料とし、コラーゲン分子が分散しているアモルファス構造の層であり、その被覆層の厚さは、好ましくは約 0.1 ~ 2mm、特に約 0.5 ~ 1mm である。

本発明の人工神経管は、先に詳細に記載した、生体内分解吸収性材料からなるチューブ 11、21 の少なくとも外面にゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層 13、23 (場合によっては 12、22 も) を有するチューブ 10、20 と、その内腔に、チューブ 10、20 の軸線にほぼ平行に挿入された予め熱脱水架橋処理を施されたコラーゲンからなる線維 31 の束とからなり、更に該各コラーゲンからなる線維がラミニンにて被覆されたものである。この人工神経管を生体に適用すると、チューブ内面及び該チューブ内腔に挿入された該各コラーゲンからなる線維の表面を神経纖維が再生の足場として利用して、再生、伸展していく。

好ましい実施態様としては、生体内分解吸収性材料からなるチューブ 11、21 がポリグリコール酸の筒状メッシュ体からなるチューブであり、該チューブの被覆層 23 (場合によっては 22 も) がアモルファスコラーゲンからなるものである。

コラーゲン線維束を構成する各線維は、従来から用いられている各種動物の皮膚、骨などに由来するコラーゲンを、酸、アルカリ又は酵素により可溶化することによって得られた I 型コラーゲン又は I 型及び III 型の混合コラーゲンからな

る線維であることが好ましく、その直径は、好ましくは約1～50μm、特に約5～10μmである。本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合は、コラーゲン線維31の直径は、好ましくは約1～50μm、特に約5～10μmである。チューブ10、20の空隙率(=(1-(コラーゲン線維の占める断面積/チューブ内腔の断面積)))。以下、同様)は、好ましくは約70～99.999%、特に90～99.99%程度であり、人工脊髄管の場合は、空隙率は、好ましくは約70～99.999%、特に90～99.99%である。例えば、内径4mmのチューブの場合、直径約10μmのコラーゲン線維31が、約160本(空隙率=99.9%)充填されている。また、このコラーゲン線維31は、その表面をラミニンにて予め被覆されていること(図示せず)が好ましい。

以下に、本発明の人工神経管の製造方法について記載する。生体内分解吸収性材料が、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、乳酸とε-カプロラクトンとの共重合体、ポリジオキサン、及びグリコール酸とトリメチレンカーボネートとの共重合体から選択される材料からなるメッシュ状材料であり、そしてチューブ11の少なくとも外面にゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層13、23(場合によっては12、22も)を有する本発明の人工神経管を製造するには、まずポリグリコール酸などを材料として、メッシュ状材料からなるチューブ11を作成する。どのような方法によって作成してもよいが、例えばポリグリコール酸などの線維(例えば、直径0.1mmの線維)を筒状に編んで、上記の厚さを有するメッシュ状のチューブを得る。調製したメッシュ状材料チューブ11を、上記のコラーゲン又はゼラチン溶液に浸漬し、風乾することによって、チューブ11の少なくとも外面、及びメッシュ孔内部表面にもコラーゲン又はゼラチン被覆層13、23(場合によっては12、22も)を形成する(該チューブの外面及びメッシュ孔内部表面のみに該コラーゲン又はゼラチン被覆層を形成する場合には、該コラーゲン又はゼラチン溶液への浸漬に先立ち、該チューブの内腔に該チューブの内面に当接するテフロン製等の棒を入れておけばよい)。チューブ11をコラーゲン又はゼラチンで被覆するためには、好ましくは約1～3重量%、特に約1～2重量%のコラーゲンを含む、約1Nの塩酸溶液(pH約3)、又は約2～30重量%、好ましくは約10～20重量%のゼラチン

水溶液を使用する。また、生体内分解性吸収材料からなるチューブ11、12としてポリグリコール酸などからなるメッシュ状材料のチューブ11を使用する場合には、該材料に親水性を付与するためその表面に、プラズマ放電、オゾン照射などの処理を行ってから、コラーゲン又はゼラチンで被覆するのが好都合である。

生体内分解吸収性材料が、微細線維化コラーゲンからなる材料であり、そしてチューブ21の被覆層23（場合によっては22も）が、コラーゲンからなるものである本発明の人工神経管を調製するには、例えば、直徑が約1～8mm、好ましくは約4mmのテフロンなどの棒を芯材として用いる。本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合は、好ましくは直徑約2～12mm、特に約10mmの棒を芯材として用いる。これを、好ましくは約0.5～3重量%、特に約1～2重量%のコラーゲンを含む約1N塩酸溶液に浸漬して、該芯材の表面に、厚さが好ましくは約5～20mm、特に約10mmのコラーゲン塩酸溶液層を形成し、これを凍結する（例えば、約0℃で約12時間）。本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合は、厚さが好ましくは約5～30mm、特に約20mmのコラーゲン塩酸溶液層を形成し、これを凍結する。凍結することによって、塩酸溶液中に分散しているコラーゲン分子の間に微細な氷が形成され、コラーゲン塩酸溶液が層分離を起こし、コラーゲン分子が再配列することによって微細線維化する。次に、これを更に真空下、凍結乾燥（例えば、約0℃で約24時間）する。凍結乾燥することによって、コラーゲン分子間の微細な氷が気化するとともに、微細線維が多重に折り重なった不織布状コラーゲン層からなるチューブが得られる。

次に、この微細線維化コラーゲン層を形成させた芯材を、ポリエチレンなどの袋に入れ、密閉し、脱気してコラーゲン層を圧縮する。圧縮することによって、密度の高い微細線維化コラーゲン層21が得られる。あるいは、脱気せずに押しつぶすことによって圧縮してもよい。圧縮は、圧縮後のコラーゲン層の厚さが好ましくは約0.5～5mm、特に約1～2mm、人工脊髄管として用いる場合には、厚さが好ましくは約0.5～5mm、特に約1～3mmとなるように行う。尚、微細線維化コラーゲンからなるチューブとして、コラーゲンの糸状物を織ったもの又は編んだものを用いる場合には、前記のコラーゲン塩酸溶液層の形成に代えて、

湿式紡糸を行ってコラーゲンの糸状物を先ず作り、それを筒状に織・編成し、そして凍結以降、同様の操作を行えばよい。

5 このように形成し、圧縮した微細線維化コラーゲン層 21 の少なくとも外面上に更にコラーゲン膜 23 (場合によっては 22 も) を形成する。これらのコラーゲン膜 23 (場合によっては 22 も) を形成することによって、より高い強度を有する人工神経管が得られる。これらのコラーゲン膜 23 (場合によっては 22 も) を形成するには、上記の棒から取り外した微細線維化コラーゲン層 21 からなるチューブを再び好ましくは約 0.5 ~ 3 重量%、特に約 1 ~ 2 重量% のコラーゲンを含む約 1N 塩酸溶液に浸漬して、微細線維化コラーゲン層 21 の少なくとも外面上に、コラーゲン塩酸溶液層を形成し、これを風乾する。この浸漬と風乾操作を複数回、好ましくは 5 ~ 20 回程度繰り返し、コラーゲン分子が分散しているアモルファス構造のコラーゲン膜 23 (場合によっては 22 も) とする (コラーゲン塩酸溶液層の厚さは、それぞれ全体として、好ましくは約 0.2 ~ 1.0 mm、特に約 0.5 mm である)。本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合は、微細線維化コラーゲン層 21 の少なくとも外面上に形成されるコラーゲン膜 23 (場合によっては 22 も) の厚みは好ましくは約 0.2 ~ 1.0、特に約 0.5 mm である。

20 このようにして調製したチューブ 20 は、コラーゲン膜のみからなるチューブと比較して高い引き裂き強度を有するために取扱いやすく、神経との縫合が容易である。

上記のように調製した、生体内分解吸収性材料からなるチューブ 11、21 の少なくとも外面にコラーゲン又はゼラチンからなる被覆層 13、23 (場合によっては 12、22 も) を形成したチューブ 10、20 の内腔に、チューブの軸線にほぼ平行に I 型コラーゲン又は I 型及び III 型混合コラーゲンからなる線維の束を挿入する。コラーゲン線維束を挿入することによって、線維束を構成している各コラーゲン線維 31 間の空隙 32、及びコラーゲン線維 31 とチューブ 10、20 内面との間の空隙 33 (正確には、各コラーゲン線維 31 の表面及びチューブ 10、20 の内面上) に神経細胞を成長させる。ここで用いるコラーゲン線維束の原料となるコラーゲンとしては、従来から用いられている各種動物の皮膚、

骨などに由来するコラーゲンを、酸、アルカリ又は酵素により可溶化することによって得られた I 型コラーゲン線維又は I 型及び III 型混合コラーゲン線維を使用することができる。コラーゲン線維としては、その直径が、好ましくは約 1 ~ 50  $\mu\text{m}$ 、特に約 5 ~ 10  $\mu\text{m}$  であるものを使用し、上記の空隙率となるようにコラーゲン線維を挿入する。

次に、好ましくは、上記で調製した生体内分解吸収性材料からなるチューブ 10、20 に架橋処理を行う（チューブ 20 を用いる場合には、チューブ 21 を調製後、被覆層 13、23（場合によっては 12、22 も）、の形成前にもこの架橋処理を行う）。架橋処理は、本発明の人工神経管に、末梢神経が再生し終わるまでの間、そのチューブ状の形状を保持させて、神経管外からの細胞の侵入を防ぐために有利である。

架橋処理は、再生を要する神経切断部の長さによっても異なるが、生体への適用後、1 ~ 3 か月間、チューブ状の形状を保持させる程度に行う。架橋方法としては、 $\gamma$ 線架橋、紫外線架橋、電子線架橋、熱脱水架橋、グルタルアルデヒド架橋、エポキシ架橋及び水溶性カルボジイミドが挙げられるが、架橋の程度をコントロールしやすく、架橋処理を行っても、生体に影響を及ぼさない熱脱水架橋が好ましい。架橋処理は、真空中、例えば約 105 ~ 150 °C、好ましくは約 120 ~ 150 °C、特に好ましくは約 140 °C の温度で、例えば約 6 ~ 24 時間、好ましくは約 6 ~ 12 時間、特に好ましくは約 12 時間行う。

上記のように、架橋処理前に生体内分解吸収性材料からなるチューブ 10、20 に挿入するコラーゲン線維束は、神経線維の成長を支援するような成分で予めそれぞれの線維を被覆しておくことが好ましい。この成分としては、ラミニン、特にヒトラミニンが好ましい。その方法としては、ラミニンを PBS に溶解したものに予め架橋処理を施しておいた該コラーゲン線維束を、浸漬したり、又はラミニンの PBS 溶液を該コラーゲンからなる線維に塗布したり、等どのような方法で行ってもよい。

上記のように調製した人工神経管は、外傷又は外科手術などによって切断された神経の両方の断端を本人工神経管に内挿し、その部分を結紮することによって、軸索が再生し、正しい方向に伸びるのを誘導して、軸索を、末梢神経幹から神経

筋接合部又は末梢感覺受容器まで到達させて、神経機能を回復させるために使用することができる。また、外傷などによって脊髄が損傷された場合においても、損傷箇所の椎骨をはずし、脊髄の損傷箇所を本人工神経管でカバーすることによって、損傷された脊髄を再生させて、その機能を回復させることができると考えられる。

以下に本発明を、実施例及び比較例により詳細に説明するが、これらは本発明を限定するものではない。

#### 実施例

ポリグリコール酸 (P G A) 線維 ( $\phi$  : 0.1 mm) を筒状に編んで、長さ約 30 mm、10 内径約 4 ~ 5 mm、厚さ約 1 mm のポリグリコール酸のメッシュ状チューブ (メッシュ孔径 : 約 10 ~ 20  $\mu$ m) を準備し、その表面をプラズマ放電処理にて親水化し、次いで、ブタ皮膚由来の 1.0 重量% 酵素可溶化コラーゲンを含む 1N 塩酸溶液に浸漬、次いで風乾することによって、チューブの外面及び内面、ならびにそのメッシュ孔内部表面を、該コラーゲンで被覆した (浸漬・風乾作業の回数は 15 10 回)。

予め熱脱水架橋処理 ( $140^{\circ}\text{C} \times 24\text{hr}$ ) に付したブタ皮膚由来酵素可溶化コラーゲン線維 ( $\phi$  : 約 5  $\mu$ m) をヒトラミニンの P B S 溶液 (濃度 : 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) に浸漬、次いで風乾 (この作業の回数 : 3 回) して得たラミニン被覆コラーゲンの線維約 80 本 (空隙率 : 99.99%) を、上記で得られた、コラーゲン被覆層をその内外面に有するチューブに挿入した。更に、真空下、 $140^{\circ}\text{C}$  で 24 時間の熱脱水架橋処理に付し、本発明の人工神経管を得た。

ネコ (体重 5 kg) の座骨神経 25 mm、イヌ (体重 10 kg) の座骨神経 80 mm、サル (体重 15 kg) の正中神経 30 mm をそれぞれ切除し、両側の神経断端を上記人工神経管に内挿し、10-0 ナイロン糸で結紮して、連結した。

25 術後、ネコでは 1 ヶ月、イヌでは 3 ヶ月、サルでは 2 ヶ月で機能回復 (大脳体性感覺誘発電位及び誘発筋電図によって観察) が認められた。

#### 比較例

内腔にコラーゲン線維束を挿入しなかった以外は、実施例と同様にして作製した人工神経管を用いて実施例と同様の観察を行った。

術後、実施例と同じ経過日数では機能の回復が認められなかった（但し、ネコ及びサルでは、それぞれ3ヶ月、4ヶ月で機能回復の兆候が認められた）。

#### 産業上の利用可能性

5 本発明の人工神経管は、神経が再生し終るまでの間、その形状を維持することができ、また神経の再生を誘導、促進するため、従来の人工神経管と比較して、切断された神経は、より速やかにより長く再生し、再生した神経の状態もより正常に近く、神経機能の回復も良好である。また損傷を受けた脊髄の再生、回復のための人工脊髄管としても使用することができる。

## 請 求 の 範 囲

1. 生体内分解吸収性材料からなるチューブの少なくとも外面にゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層を有するチューブと、その内腔に該チューブの軸線にほぼ平行に挿入された熱脱水架橋処理されたコラーゲン線維束とからなり、該コラーゲン線維束を構成するそれぞれの線維がラミニンにて被覆されたものである人工神経管。

2. 前記の生体内分解吸収性材料が、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、乳酸と $\epsilon$ -カプロラクトンとの共重合体、ポリジオキサン、及びグリコール酸とトリメチレンカーボネートとの共重合体の群から選択される材料からなるメッシュ状材料である、請求の範囲第1項記載の人工神経管。

3. 前記のメッシュ状材料が、約5～30 $\mu$ mのメッシュ孔径を有するものである、請求の範囲第2項記載の人工神経管。

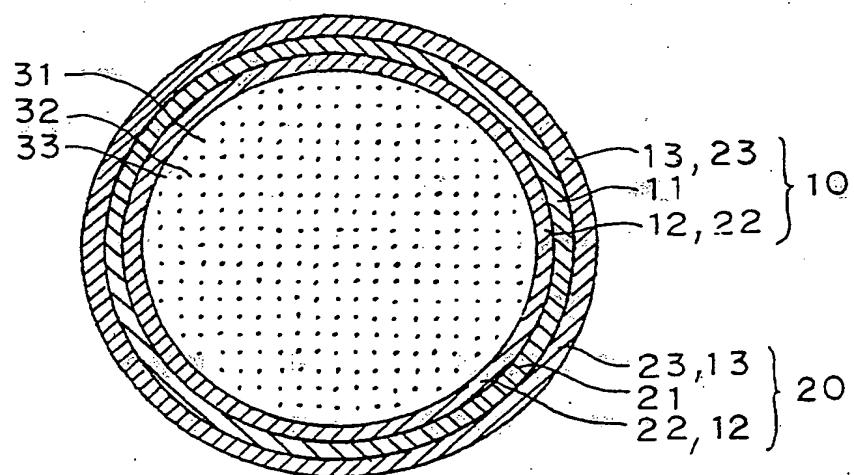
4. 前記の生体内分解吸収性材料が、微細化線維コラーゲンからなるものである、請求の範囲第1項の人工神経管。

5. 請求の範囲第1項乃至第4項記載の人工神経管の製造方法であって、熱脱水架橋を施したコラーゲンの線維束を準備し；該コラーゲンの線維束を構成するそれぞれの線維の表面をラミニンにて被覆し；生体内分解吸収性材料からなるチューブの少なくとも外面にゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層を有するチューブを作成し；該チューブの軸線にほぼ平行に該ラミニン被覆コラーゲン線維束を挿入し；そして架橋処理に付す；方法。

6. 前記のコラーゲンの線維束の充填密度が、空隙率で表わして90～99.99%である請求の範囲第5項記載の方法。

1/1

第 1 図



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/03018

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
Int.Cl<sup>6</sup> A61F2/04, A61L27/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>6</sup> A61F2/04, A61L27/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN), MEDLINE (STN)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y         | TONG, XIAO-JIE ET AL., "SCIATIC NERVE REGENERATION NAVIGATED BY LAMININ-FIBRONECTIN DOUBLE COATED BIODEGRABLE COLLAGEN GRAFTS IN RATS" BRAIN RESEARCH, VOL. 663 NO. 1 (1994) PP.155-162, SEE ABSTRACT; P.156 LEFT COLUMN L.14-26; P.156 LEFT COLUMN FIG.1(b) | 1-6                   |
| Y         | JP, 2-502432, A (ASTRA MEDITEC AB), 9 August, 1990 (09. 08. 90), Claims & WO, 88/6871, A1 & EP, 351411, A1 & HK, 14495, A  | 1-6                   |
| Y         | JP, 6-292716, A (Yoshihiko Shimizu), 21 October, 1994 (21. 10. 94), Abstract ; Claims (Family: none)   | 1-6                   |
| Y         | JP, 60-34450, A (Terumo Corp.), 22 February, 1985 (22. 02. 85), Claims (Family: none)  | 1-6                   |

Further documents are listed in the continuation of Box C.  See patent family annex.

|   |  |
|---|--|
| * Special categories of cited documents:  |  |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  |
| "E" earlier document but published on or after the international filing date  | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone   |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  | "&" document member of the same patent family  |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed  |  |

Date of the actual completion of the international search  
27 August, 1999 (27. 08. 99)

Date of mailing of the international search report  
7 September, 1999 (07. 09. 99)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Faxsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/03018

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| A         | JP, 7-501465, A (RESEARCH DEVELOPMENT FOUNDATION), 16 February, 1995 (16. 02. 95), Claims & WO, 93/10722, A2 & TW, 310273, A & EP, 614345, A1 & CN, 1079912, A | 1-6                   |
| A         | JP, 2-109569, A (Nippon Meat Packers, Inc., Yoshihiko Shimizu), 23 April, 1990 (23. 04. 90), Claims (Family: none)   | 1-6                   |

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP99/03018

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61F 2/04, A61L 27/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61F 2/04, A61L 27/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN)

## C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の<br>カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示  | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| Y               | TONG, XIAO-JIE ET AL. "SCIATIC NERVE REGENERATION NAVIGATED BY LAMININ-FIBRONECTIN DOUBLE COATED BIODEGRABLE COLLAGEN GRAFTS IN RATS"<br>BRAIN RESEARCH, VOL. 663 NO. 1 (1994) PP. 155-162,<br>SEE ABSTRACT; P. 156 LEFT COLUMN L. 14-26; P. 156 LEFT COLUMN FIG. 1(b) | 1-6              |
| Y               | J P, 2-502432, A (ASTRA MEDITEC AB)<br>9. 8月. 1990 (09. 08. 90) クレーム<br>& WO, 88/6871, A1 & EP, 351411, A1<br>& HK, 14495, A   | 1-6              |

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27. 08. 99

国際調査報告の発送日

07.09.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

井上 典之

4C 9360

印

電話番号 03-3581-1101 内線 6485

| C (続き) 関連すると認められる文献 |  | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
|---------------------|--|------------------|
| 引用文献の<br>カテゴリ--*    | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示  |                  |
| Y                   | JP, 6-292716, A (清水慶彦)<br>21. 10月. 1994 (21. 10. 94) 要約及びクレーム<br>ファミリーなし   | 1-6              |
| Y                   | JP, 60-34450, A (テルモ株式会社)<br>22. 2月. 1985 (22. 02. 85) クレーム<br>ファミリーなし   | 1-6              |
| A                   | JP, 7-501465, A (RESEARCH DEVELOPMENT FOUNDATION)<br>16. 2月. 1995 (16. 02. 95) クレーム<br>& WO, 93/10722, A2 & TW, 310273, A<br>& EP, 614345, A1 & CN, 1079912, A | 1-6              |
| A                   | JP, 2-109569, A (日本ハム株式会社, 清水慶彦)<br>23. 4月. 1990 (23. 04. 90) クレーム<br>ファミリーなし  | 1-6              |